Vol. 33, nº 2. — Janvier 1926.

Travaux du Laboratoire de Zoologie et Anatomie comparée
de l'Université de Genève

Une Microsporidie, Plistophora bufonis, parasite de l'organe de Bidder du Crapaud.

PAR

Emile GUYÉNOT et K. PONSE

avec 6 figures dans le texte et la planche 1.

Sommaire:

Introduction.

L'organe parasité.

Evolution aboutissant a la macrospore.

A. Schizogonie.
B. Sporogonie.
C. Les macrospores.
D. Sporulation aberrante.

Evolution aboutissant a la microspore.

A. Schizogonie, formes mycéliennes.
B. Sporogonie.
C. Nombre des chromosomes.
D. Les microspores.

Evolution dans les cellules migratrices.

A. Développement dans le cytoplasme.
B. Développement dans le noyau.
C. Comparaison avec les faits signalés par Stempell.
D. Infiltration diffuse dans le tissu conjonctif.

Signification des deux types d'évolution.

Systématique. Comparaison avec *Bertramia bufonis* King.

Résumé et conclusions.

Introduction.

Parmi les nombreux Crapauds (*Bufo vulgaris*), dont nous avons examiné les organes de Bidder, nous avons rencontré un jeune mâle dans lequel ces deux organes, en grande partie détruits, montraient, dans leurs ovocytes et dans le stroma conjonctif, les diverses phases de la schizogonie et de la sporogonie d'une Microsporidie. Le seul fait que nous puissions rapprocher de ce cas est celui de la présence, dans l'organe de Bidder de *Bufo lentiginosus*, d'un Sporozoaire étudié par H. D. King (1907), que celle-ci a rapporté au groupe des Haplosporidies et décrit sous le nom de *Bertramia bufonis*. Nous examinerons plus loin les relations pouvant exister entre ce parasite et celui que nous allons étudier.

Le développement d'une Microsporidie à l'intérieur de cellules d'une aussi grande taille que les ovocytes de l'organe de Bidder, pouvant atteindre un diamètre de 80 à 200 μ, présente, pour l'étude, plusieurs avantages. Les éléments y sont en effet isolés, dispersés à l'intérieur d'un cytoplasme homogène, sans être tassés les uns contre les autres, ni déformés; l'aspect qu'ils présentent n'est pas sans analogie, semble-t-il, avec ce que pourrait donner une culture du Sporozoaire dans un milieu approprié. Grâce à cette particularité, nous avons pu observer, sur les coupes, un nombre considérable de figures extrêmement claires et qui ne le cèdent en rien, comme netteté, aux frottis les mieux réussis. Une excellente fixation et une coloration adéquate nous ont permis d'examiner des centaines de caryocinèses, avec une telle précision qu'il nous a été possible d'effectuer incidemment une étude de la constance numérique des grains chromatiques dans cette Microsporidie, malgré les très faibles dimensions du parasite.

Le fait, d'autre part, que chaque ovocyte représente un milieu isolé et défini, nous a permis d'établir, d'une façon indiscutable, l'existence de deux types de schizogonie et de sporogonie, semblables à ceux que l'un de nous (1922) a précédemment décrits chez *Plistophora (Glugea) danilewskyi*. Certains ovocytes ne renferment, en effet, que des microspores avec les stades correspondants de ce type de sporogonie. D'autres renferment, au contraire, à l'état pur,

les phases d'un deuxième type de sporogonie aboutissant à la formation de macrospores. Il existe, par ailleurs, d'autres ovocytes, dans lesquels les deux processus se trouvent réunis; il est alors possible de les reconnaître aisément lorsqu'on a appris à les distinguer par l'étude préalable des ovocytes ne renfermant que l'un ou l'autre type d'évolution.

Nous signalerons enfin, parmi les résultats de cette étude qui nous paraissent de quelque intérêt, le fait que le Sporozoaire peut aussi évoluer dans des cellules folliculaires ayant pénétré dans les ovocytes et spécialement *à l'intérieur du noyau* de ces cellules. La connaissance d'un semblable développement intranucléaire de la Microsporidie est de nature, semble-t-il, à jeter quelque lumière sur la signification des observations si contestées de STEMPELL (1904) et de AWERINZEW et FERMOR (1911).

Le matériel que nous avons étudié avait été fixé au sublimé acétique; les coupes ont été colorées à l'hématoxyline ferrique et cette coloration nucléaire a été suivie d'une coloration plasmatique à l'éosine ou au rouge Bordeaux. Les examens ont été faits, en grande partie, avec le microscope binoculaire Leitz AABM (immersion $^1/_{12}$, oc. périplan. 10) qui nous a donné, pour des objets aussi petits, une netteté de vision tellement supérieure à celle que permet le microscope monoculaire ordinaire que nous n'hésitons pas à recommander son emploi pour des travaux de ce genre. Tous les dessins ont été faits à la chambre claire, avec un grossissement de 2500 diamètres.

Avant de décrire les phases de l'évolution de la Microsporidie, parasite de l'organe de Bidder, nous croyons nécessaire de préciser quelques-uns des termes dont nous nous servirons au cours de cette étude. Cette Microsporidie formant des spores ovoïdes, réunies en amas pansporoblastiques plus ou moins volumineux, nous aurons, pour la déterminer, à choisir entre les genres *Glugea*, *Stempellia* et *Plistophora*. Dans ces trois genres, les spores étaient autrefois décrites comme renfermées à l'intérieur de pansporoblastes, considérés comme dérivant eux-mêmes du sporonte initial à l'intérieur duquel se sont différenciés les sporoblastes, puis les spores. Cette interprétation reste valable pour les *Stempellia*, et les *Plistophora*. Dans le premier genre, le sporonte peut, ou bien donner directement une seule spore géante, ou se diviser en deux sporoblastes et 2 spores, ou 4 sporoblastes et 4 spores, ou enfin 8 sporoblastes

et 8 spores. Dans le genre *Plistophora*, le sporonte se divise en un nombre variable et élevé de sporoblastes qui donnent autant de spores. Dans les genres voisins, *Thelohania* et *Duboscqia*, les sporontes forment réciproquement, et avec régularité, 8 ou 16 spores. Les spores restent réunies à l'intérieur de l'ancien sporonte, dont la membrane externe devient ainsi la coque pansporoblastique. L'existence de cette coque a parfois été niée; nous l'avons, en tout cas, toujours nettement rencontrée et vue colorée dans les Microsporidies que nous avons étudiées.

Dans le cas de *Glugea*, le mot sporonte est pris dans un sens différent, à la suite principalement des travaux de Debaisieux (1919-20). D'après ce dernier auteur, des plasmodies plurinucléées se divisent en un nombre variable d'éléments à deux noyaux qui, par copulation des noyaux, formeraient des zygotes et, par suite, autant de sporontes. Ce sont ces sporontes qui se diviseraient en deux sporoblastes et donneraient chacun deux spores. S'il y a eu, par exemple, formation, dans la plasmodie, de 12 sporontes et de 24 spores, celles-ci se trouvent non disséminées, mais réunies en un amas pansporoblastique, le kyste sporal, qui correspond non plus à la paroi d'un sporonte initial, mais à celle de la plasmodie plurinucléée.

Autrement dit, tandis que, dans la plupart des cas, le mot sporonte s'applique à l'élément chef de file de la sporogonie, dont les termes d'évolution ou spores sont réunis en amas pansporoblastiques, dans le cas de la *Glugea*, l'amas pansporoblastique correspond à une plasmodie, sorte de sporonte primaire, à l'intérieur de laquelle naissent les sporontes proprement dits qui ont ici une valeur bien déterminée, celle d'un zygote.

Au cours de recherches effectuées par l'un de nous sur un parasite de la Couleuvre (1922) qui paraît correspondre très exactement à *Glugea danilewskyi*, étudiée par Debaisieux (1919), nous avons été incapables de retrouver l'évolution décrite par ce dernier auteur. Malgré des examens d'un nombre considérable de frottis et de coupes portant sur des centaines de kystes, nous n'avons jamais rencontré ni les stades de copulation autogamique, ni la division des sporontes en sporoblastes. Nous avons exclusivement constaté une division multiple d'un élément plurinucléé en un nombre variable de sporoblastes donnant chacun une seule spore. Ces spores se trouvent renfermées à l'intérieur de coques pansporo-

blastiques extrêmement nettes et qui apparaissent parfois sur les frottis, plus ou moins vidées de leur contenu et électivement colorées, si bien que leur existence n'est pas douteuse. DEBAISIEUX, de son côté, décrit pour *G. anomala*, les spores comme renfermées dans la grande vacuole, précédemment occupée par la plasmodie, sans pouvoir affirmer si cet espace possède une membrane propre (coque pansporoblastique). A propos de *G. danilewskyi*, DEBAISIEUX décrit les « amas de spores » qui s'échappent des kystes, sans préciser, en aucune façon, la nature de la liaison qui réunit ces spores en amas. En présence de ces observations contradictoires, nous en sommes venus à nous demander si le caractère de sporulation indiqué par DEBAISIEUX est général pour les *Glugea* ou si, malgré toutes les apparences, résultant du développement dans le même hôte, en formant les mêmes tumeurs, de Microsporidies aboutissant à des spores identiques, les parasites étudiés par DEBAISIEUX et par nous-mêmes correspondent bien à un seul et même Sporozoaire.

Ces difficultés nous ont fait porter notre attention d'une façon toute spéciale, au cours de notre nouvelle étude, sur l'allure de la sporogonie. Ici non plus, nous n'avons pu reconnaître de sporontes, résultant d'une copulation autogamique, se divisant en deux sporoblastes. L'évolution est tout à fait comparable à celle décrite pour les *Plistophora*, avec, pour un certain type d'évolution, une plus grande régularité, rappelant ce que l'on observe dans les *Stempellia*. Aussi serons-nous amenés à classer le parasite dans le genre *Plistophora*, bien que par l'ensemble de son évolution, par la dimension de ses spores, il ne diffère presque en rien de *G. danilewskyi*, qui, autant qu'on le sait, a été rencontrée non seulement chez les Reptiles, mais aussi chez *Rana temporaria* (PFEIFFER, 1895). Nous ne pouvons nous empêcher ici de signaler l'indiscutable parenté entre le parasite de l'organe de Bidder du Crapaud, que nous avons provisoirement dénommé *Plistophora bufonis*, et *G. danilewskyi*, pour la position systématique de laquelle nous avons d'ailleurs fait des réserves, en la cataloguant sous le nom de *Plistophora (Glugea) danilewskyi*, dans un précédent mémoire (1925).

L'ORGANE PARASITÉ.

Normalement, l'organe de Bidder se montre formé d'ovocytes, pouvant atteindre chez des Crapauds de cette taille (2^{cm},5), un

diamètre de 200 μ, entourés de cellules folliculaires aplaties et séparés les uns des autres par des tractus de tissu conjonctif, dans lesquels serpentent de nombreux capillaires. Les ovocytes ne dépassent jamais un certain stade d'évolution, en particulier — hors des cas tout à fait exceptionnels — n'élaborent pas de plaquettes vitellines; ils dégénèrent après avoir atteint leur taille maximum et sont, au fur et à mesure, remplacés par de nouveaux éléments en voie de croissance.

Dans les ovocytes en voie de dégénérescence, que l'on rencontre çà et là dans l'organe, on observe, le plus souvent, l'envahissement du cytoplasme par des cellules folliculaires et des leucocytes, parfois accompagnés d'hématies. Les phagocytes englobent des fragments de cytoplasme que l'on retrouve à leur intérieur et détruisent peu à peu l'élément ovarien dont le noyau n'est altéré qu'en dernier lieu. Souvent, ces cellules phagocytaires se disposent ensuite assez régulièrement, en formant une masse pleine qui n'est pas sans une certaine analogie superficielle avec un corps jaune de Mammifère. Nous ne décrivons là que l'un des processus les plus habituels de la dégénérescence des ovocytes, celui qui a des rapports avec notre étude actuelle.

Les organes de Bidder parasités par la Microsporidie présentaient, comme trait caractéristique, une dégénérescence étendue de toute leur partie centrale (Pl. 1, fig. C). A la périphérie se trouvent des ovocytes plus ou moins âgés, dont les uns sont indemnes, tandis que d'autres montrent, dans leur cytoplasme, diverses phases de multiplication et de sporulation du parasite. Certains, dont l'infestation est plus ancienne, sont littéralement bourrés de pansporoblastes qui remplissent le cytoplasme, tandis que leur noyau est encore reconnaissable, au centre de la cellule. Plus ou moins précocement, ces ovocytes parasités sont envahis par des cellules migratrices, paraissant constituées principalement par des cellules folliculaires et en partie par des leucocytes. Le protoplasme, ou ce qu'il en reste, est phagocyté, le noyau disparaît et l'on ne trouve plus, à la place de l'ovocyte, qu'un amas souvent inextricable de cellules migratrices, de pansporoblastes, de spores isolées et de débris cytoplasmiques encore non englobés. Tout cet ensemble reste souvent limité par la couche conjonctive qui entourait l'ovocyte, si bien que le contour primitif de celui-ci est encore reconnaissable. Finalement, par suite du remaniement de ces ovocytes

détruits, s'est trouvée constituée une vaste aire axiale, bourrée de cellules et de spores, plus ou moins disséminées, qui occupe le centre de l'organe de Bidder.

L'envahissement des ovocytes par des cellules migratrices peut être plus précoce, se faisant avant l'infestation ou dès le début de celle-ci. Mais la pénétration de ces cellules paraît alors avoir un rapport direct avec l'évolution du Sporozaire lui-même; c'est là un cas particulier que nous envisagerons séparément et qui n'est nullement comparable au processus de dégénérescence que nous venons de décrire et qui aboutit à la destruction secondaire d'ovocytes déjà fortement altérés par le développement du parasite.

Nous ajouterons que le parasite est exclusivement localisé aux deux organes de Bidder. Les testicules, les corps jaunes et les reins, coupés en même temps, se montrent, en effet, complètement indemnes. Toutefois, comme la présence du parasite n'a été reconnue que lors de l'examen histologique de ces parties, nous ne pouvons pas savoir si l'animal ne présentait pas quelqu'autre localisation du Sporozoaire.

Evolution aboutissant a la macrospore

(Pl. 1, fig. A).

Ainsi que nous l'avons précédemment indiqué, l'évolution de la Microsporidie se présente d'une façon différente d'un ovocyte à l'autre. Des dessins rapides, effectués par projection, des coupes des organes de Bidder, nous ont permis de repérer plus de 50 ovocytes parasités et de les suivre à travers la série des coupes. Un certain nombre présentaient exclusivement le type d'évolution aboutissant à la macrospore. C'est en nous basant sur les figures fournies par ces ovocytes que nous en effectuerons la description.

A. *Schizogonie.*

Les formes les plus jeunes que nous ayons observées sont des amibes, à contour arrondi ou ovoïde, uninucléées, libres dans le cytoplasme de l'ovocyte (Pl. 1, fig. A, *1*) (fig. I, *1*). Les dimensions de ces éléments sont de 3 μ, 2 à 4 μ environ. Ils se laissent remarquer par l'état de leur cytoplasme qui est creusé de vacuoles, clair,

peu colorable par l'éosine, avec une grande vacuole centrale, dans laquelle ou sur le bord de laquelle se trouve le noyau. Celui-ci frappe par ses fortes dimensions, son contour irrégulier, sa colorabilité. Ces éléments grandissent, prennent une forme ovoïde, mesurant alors 5 μ,6 sur 3 μ,6 environ; leur noyau se divise en deux noyaux qui s'isolent chacun dans une vacuole (Pl. 1, fig. A, 2) (fig. I, *2*, *3*). Déjà, à ce moment, les deux cellules ainsi formées peuvent s'individualiser et se séparer l'une de l'autre (fig. I, *4*). Le plus souvent, le petit plasmode s'agrandit encore; les noyaux se divisent à nouveau. Dans ces plasmodes à 4 noyaux (Pl. 1, fig. A, *4*), (fig. I, *5*), qui mesurent environ 5 à 6 μ de diamètre, des bosselures de la surface indiquent, d'une façon précoce, l'individualisation des éléments qui ne tardent pas à se séparer (fig. I, *6*). Les 4 schizontes peuvent d'ailleurs se rediviser aussitôt (fig. I, *7*) et donner ainsi 8 éléments (fig. I, *8*). Nous avons vu aussi quelques figures indiquant une dissociation des schizontes à un stade plus avancé, à 8 noyaux, mais nous avons constaté que la décomposition en 4 schizontes est de beaucoup la plus fréquente. Pendant

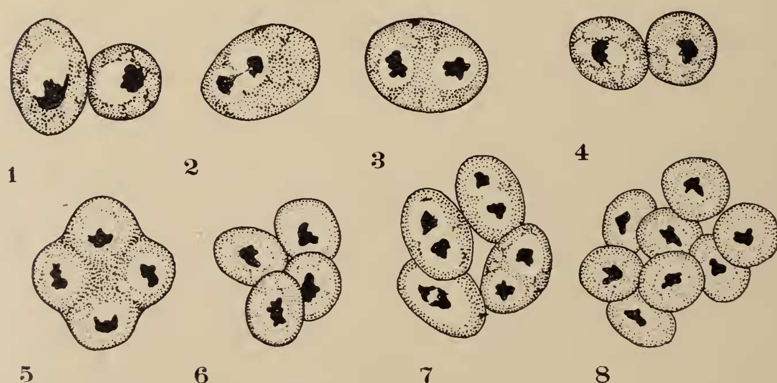


Fig. I.

Stades de schizogonie de *P. bufonis*, évolution macrosporée.

1 = schizontes uninucléés; *2* = schizonte dont le noyau est en division; *3* = schizonte binucléé; *4* = dissociation du stade précédent en deux schizontes uninucléés; *5* = schizonte ayant présenté deux divisions consécutives de son noyau; *6* = individualisation des quatre schizontes résultant du stade tétranucléé précédent; 7 = nouvelle division des quatre schizontes résultant de la dissociation au stade quatre; *8* = groupe de 8 schizontes, provenant soit d'une dissociation simultanée d'un stade à 8 noyaux, soit de la nouvelle division des 4 schizontes de la figure *7*. (× 2500).

toute cette évolution, les éléments gardent un protoplasme clair, vacuolaire, un noyau gros, de contour irrégulier et très colorable [1].

B. *Sporogonie.*

Les schizontes, nés des divisions précédentes, peuvent sans doute s'accroître et recommencer le cycle végétatif. Dans d'autres cas, ils doivent devenir le point de départ de la sporogonie. Celle-ci ne peut être reconnue avec certitude que sur des stades à 4 noyaux. Il s'agit alors de plasmodes (Pl. 1, fig. A, *3*) (fig. II, *9*), à contour arrondi ou un peu irrégulier, dont le protoplasme est assez fortement colorable par l'éosine et présente un aspect plus homogène, moins vacuolaire. Les dimensions, qui correspondent à un diamètre de 4 μ à 4 μ,2, sont inférieures à celles des plasmodes à même nombre de noyaux de la schizogonie. Les noyaux sont toujours gros, fortement colorables, mais plus compacts et situés dans des vacuoles plus petites. Evidemment, cette description correspond aux cas les plus typiques; toutefois, ces caractères distinctifs peuvent se trouver plus ou moins atténués, si bien qu'il est souvent difficile de rapporter avec certitude un stade à 4 noyaux à la schizogonie ou à la sporogonie. Ces plasmodes à 4 noyaux sont de beaucoup les figures les plus fréquentes. Ceux-ci s'accroissent un

[1] Il est certain qu'il n'y a pas de criterium absolu permettant de distinguer à coup sûr ce qui appartient à la schizogonie de ce qui doit rentrer dans la sporogonie. Nous avons procédé de la façon suivante. Les spores se présentent toujours dans des pansporoblastes *à l'intérieur desquels* on retrouve les sporoblastes et les stades de leur transformation en spores. Ces sporoblastes s'individualisent dans des plasmodes à 4, 8 ou 16 noyaux qui dérivent de plasmodes, à protoplasme encore indivis, que l'on peut ainsi rattacher à la sporogonie. Toutes les autres formes que l'on observe sont *libres* dans le cytoplasme de l'ovocyte. Elles comprennent aussi des plasmodes à 4 ou 8 noyaux, mais dont la dissociation aboutit à des formes qui sont, à leur tour, libres dans le cytoplasme au lieu de se différencier *à l'intérieur* d'une masse commune. C'est par la considération de caractères de taille, de structure du noyau, de colorabilité du protoplasme que nous avons été amenés à placer à la base de la schizogonie des formes à 1 et 2 noyaux. Certaines de celles-ci ont-elles la valeur de sporontes ? C'est ce dont nous n'avons pu nous convaincre, car à ce moment le fil conducteur qui nous a servi à séparer la schizogonie de la sporogonie fait défaut. Il est possible que si le développement s'était fait à l'intérieur de vacuoles toutes semblables, comme c'est le cas dans bien des kystes à Microsporidies, nous aurions pu être tentés plus facilement d'interpréter certaines formes à 2 noyaux, que nous plaçons dans la schizogonie, comme ayant la valeur d'éléments autogamiques.

peu et donnent des stades à 8 noyaux, mesurant 5 μ à 5 μ,5, qui ne sont, par conséquent, pas plus grands que les plasmodes à 4 noyaux de la schizogonie. Enfin, une nouvelle division du noyau peut donner des plasmodes à 16 noyaux (fig. II, *14*), mais ce cas est le moins fréquent. Bien entendu, quand nous parlons de stades à 4, 8 ou 16 noyaux, il va sans dire que le nombre exact des noyaux, présents dans le plasmode, dans une même coupe, peut être souvent différent, 3, 5, 6, 9, 12, etc. Toutefois, les nombres typiques 4 et 8 sont les plus fréquents, les dimensions des plasmodes par rapport à l'épaisseur des coupes (6 μ), sont, en effet, telles qu'un grand nombre d'entre eux sont complets dans une seule coupe. Il n'est d'ailleurs pas impossible que certaines irrégularités dans la division des noyaux entraînent l'existence de stades ayant réellement 6, 12, 14 noyaux, par exemple.

Quoiqu'il en soit, nous avons constaté la dissociation du plasmode ou sporonte, en sporoblastes donnant chacun une spore, soit au stade 4, soit au stade 8 (fig. II, *11*), soit au stade 16 (fig. II, *14*).

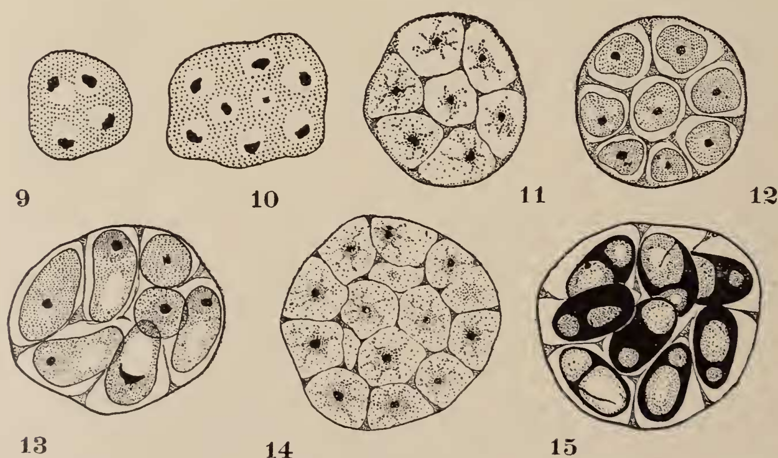


Fig II.

Stades de sporogonie de *P. bufonis*, évolution macrosporée.

9 = sporonte transformé en un plasmode à 4 noyaux; *10* = plasmode à 8 noyaux; *11* = individualisation des sporoblastes à l'intérieur d'un plasmode à 8 noyaux; *12* = individualisation achevée des sporoblastes qui ont encore une forme arrondie; *13* = sporoblastes ayant pris une forme ovoïde et montrant quelques étapes de leur transformation en spores; *14* = individualisation des sporoblastes dans un plasmode à 16 noyaux; *15* = macrospores renfermées dans un pansporoblaste, avec reliquats du réticulum, dans les mailles duquel les sporoblastes se sont individualisés. (× 2500).

Le premier indice de cette transformation est l'apparition, dans le plasmode — à 8 noyaux, par exemple — d'une sorte de réseau colorable dont les mailles correspondent aux contours des futurs sporoblastes (Pl. 1, fig. A, *6*) (fig. II, *11*). La périphérie du plasmode persiste, parfaitement délimitée, souvent épaissie et fortement colorable par l'éosine. C'est elle qui formera la coque du futur pansporoblaste. A l'intérieur des mailles du réseau, s'individualisent des sporoblastes, dont le protoplasme est d'abord extrêmement pâle, presque incolorable, sauf dans une petite zone qui entoure le noyau qui est lui-même moins gros et moins colorable. Puis chacun de ces sporoblastes présente un contour bien délimité en même temps que son cytoplasme devient plus éosinophile (Pl. 1, fig. A, *7*) (fig. II, *12*); le réseau peut à ce moment être plus ou moins rompu, mais il persiste habituellement pendant longtemps et peut être encore reconnaissable au milieu des spores achevées, soit sous sa forme initiale, soit sous celle d'un reliquat central fortement éosinophile (fig. V, *35*). Les sporoblastes à noyau petit, contracté, mais bien colorable, ont, dans le cas de la formation de 8 à 16 éléments aux dépens d'un même plasmode, une dimension de 2 μ,5 à 3 μ,5.

Etant donné que les sporoblastes qui s'individualisent dans les plasmodes sont d'abord arrondis et n'acquièrent que secondairement la forme ovoïde qui précède immédiatement la spore, on pourrait se demander si les éléments arrondis, que l'on observe au début, ont bien déjà la valeur de sporoblastes ou bien s'ils ne seraient pas des sporontes, au sens de Debaisieux, c'est-à-dire susceptibles de donner par division deux sporoblastes. En réalité nous avons pu nous convaincre que les petites cellules arrondies qui prennent naissance dans les plasmodes sont bien des sporoblastes se transformant directement et sans division nouvelle en autant de spores.

Cette affirmation repose sur trois sortes de constatations:

1° Elle est d'abord basée sur l'existence de pansporoblastes complets à 4, 8 ou 16 spores. Les numérations effectuées nous ont montré que le nombre de 16 spores paraît ne jamais être dépassé dans l'évolution macronucléée pure. Sur 114 pansporoblastes examinés, 28 appartenaient au type à 4 spores, 49 au type à 8 spores, et 47 au type à 16 spores.

2° Nous avons pu suivre la transformation directe des sporo-

blastes en spores. Les éléments, primitivement arrondis ou d'aspect un peu amiboïde, s'allongent et prennent la forme ovoïde caractéristique des sporoblastes (Pl. 1, fig. A, *9*) (fig. II, *13*). Ces derniers, que l'on retrouve au nombre de 4, 8 ou 16 environ, mesurent alors de 4 μ à 4 μ,8 de long sur 2 μ à 2 μ,4 de large. Ces dimensions sont, comme nous le verrons, tout à fait de l'ordre de grandeur de la spore. Elles se rattachent à celles des formes du début qui, tant qu'elles sont arrondies, ont un diamètre de 2 μ,5 à 3 μ,5. D'ailleurs, comme la transformation n'est pas toujours synchrone dans un même pansporoblaste, on trouve fréquemment, côte à côte, quelques éléments encore arrondis, au stade de début, et des cellules déjà allongées, ovoïdes, ayant la forme caractéristique des sporoblastes. Nous ajouterons que, pour la même raison, dans les pansporoblastes plus avancés, on rencontre simultanément des spores déjà fortement colorables et des sporoblastes encore en évolution (Pl. 1, fig. A, *8*), si bien que la continuité de transformation, sans multiplication, du sporoblaste arrondi en sporoblaste ovoïde, et de celui-ci en spore, apparaît ainsi hors de doute.

3° Le nombre des spores étant de 4, 8 ou 16 environ, par pansporoblaste, correspond directement à celui des éléments initiaux. De plus, dans nombre de cas, alors que les spores sont achevées, le réticulum plasmatique dans les mailles duquel se sont individualisés les corps arrondis est encore très reconnaissable (Pl. 1, fig. A, *10*) et l'on constate que chaque maille contient une seule spore et non deux (fig. II, *15*).

C. *Les macrospores.*

Il est, comme toujours, malaisé de sérier les innombrables aspects que présentent les sporoblastes au moment de leur transformation en spores. Au début, les éléments ovoïdes que sont ces sporoblastes renferment, dans une petite vacuole, le noyau qui a pris une structure plus compacte (fig. II, *13*), et qui se présente parfois comme formé de deux grains ou bâtonnets chromatiques, plus ou moins séparés l'un de l'autre. Dans d'autres cas, on voit ce noyau prendre une forme en croissant et coiffer le fond d'une vacuole ovoïde qui occupe l'un des bouts de la spore (Pl. 1, fig. A, *8*). A l'intérieur de cette vacuole, on voit fréquemment une sorte de filament qui la traverse obliquement : ces deux formations se laissent bien recon-

naître dans la spore achevée. Parfois, il existe un ou deux autres petits points chromatiques, mais trop petits pour être considérés comme des noyaux. Dans des figures paraissant correspondre à des stades plus avancés, le noyau, toujours à l'intérieur d'une vacuole, est entouré d'une petite masse arrondie de cytoplasme qui s'individualise et constitue à coup sûr le germe de la spore (Pl. 1, fig. A, *9*). Le germe et son noyau sont aussi reconnaissables dans les spores achevées. Bientôt les sporoblastes dont la forme devient de plus en plus régulière, présentent la colorabilité classique de la spore dans laquelle on finit par ne plus distinguer que deux zones plus claires, dont l'une paraît correspondre à la capsule polaire et l'autre au germe, séparées par une bande transversale plus colorable, aspect qui a été décrit par tous les auteurs (fig. II, *15*). Les dimensions des macrospores sont de 4 μ à 5 μ,2 de long sur 1 μ,6 à 2 μ de large. Les plus grosses se rencontrent dans le cas où le pansporoblaste ne renferme que 4 spores. Les plus petites s'observent dans les pansporoblastes renfermant 16 spores.

En résumé, l'évolution aboutissant à la macrospore est caractérisée par la grande dimension des schizontes et de leurs noyaux, par l'isolement de sporoblastes au nombre de 4, 8 ou 16 environ, donnant directement autant de spores de grande taille. Le nombre relativement défini des spores rappelle ce qui se passe chez les *Stempellia*, mais nous ne pensons pas qu'il y ait, dans le cas que nous étudions, une véritable constance du nombre des spores. Nous avons recherché avec beaucoup de soin toutes les figures qui pourraient parler en faveur de l'existence d'un stade diplocaryon ou d'une fusion autogamique précédant la formation des sporoblastes, mais nous n'avons rien rencontré de semblable. Tous les aspects à deux noyaux correspondaient évidemment à des divisions nucléaires et appartenaient certainement à la schizogonie, comme le montraient la dimension des éléments, celle de leur noyau, la structure vacuolaire de leur protoplasma et leur état de liberté dans le cytoplasme des ovocytes. Il n'est peut-être pas impossible que, dans de rares cas, les individus arrondis provenant de la dissociation d'un plasmode à 8 noyaux par exemple, puissent, par une ultime division, donner naissance à 16 sporoblastes et partant à 16 spores, mais ce phénomène reste hypothétique et n'est pas, en tout cas, précédé d'une autogamie quelconque. Toutes nos observations nous conduisent à conserver aux éléments arrondis

provenant de la dissociation du plasmode le nom de sporoblastes; le terme sporonte ne peut appartenir qu'à des cellules que nous n'avons pu distinguer des schizontes jeunes et qui, que cela soit précédé ou non d'un phénomène de sexualité, donnent, par deux divisions de leur noyau, naissance aux petits plasmodes à 4 noyaux que nous avons décrits à la base de la sporogonie.

D. *Sporulation aberrante.*

On rencontre dans presque tous les ovocytes renfermant de la macrosporogenèse [1], mais avec une fréquence très variable de l'un à l'autre, un certain nombre de figures sur l'interprétation desquelles nous conservons beaucoup d'hésitation et dont voici la description:

a) Certains plasmodes (fig. III, *16*), présentant la dimension de pansporoblastes, sont remplis d'éléments très allongés, ressemblant à des sporoblastes qui seraient fortement étirés. Ces éléments mesurent de 4 à 7 μ de long sur 1 μ,5 de large. On les rencontre au nombre de 8 environ. Ils sont presque toujours d'aspect enfumé, conservant fortement l'hématoxyline ferrique, même dans des préparations où tous les autres éléments sont très exactement colorés. Leur contour a souvent — mais pas toujours — un aspect irrégulier, granuleux, comme s'il s'agissait d'éléments en dégénérescence ou mal fixés. Dans quelques cas heureux, on peut apercevoir, près d'un pôle, une petite vacuole renfermant un corps très chromatique, correspondant au noyau.

b) Dans certains de ces groupements (fig. III, *17*), on observe, à côté de ces formes longues et enfumées, des éléments très clairs, renfermant un petit noyau, ayant une forme amiboïde ou un contour arrondi et dont les dimensions correspondent à un diamètre de 1 μ,4 à 2 μ,2 environ. Ces petites amibes sont donc notablement plus petites que les sporoblastes décrits précédemment et l'on pourrait imaginer qu'elles dérivent de la division en deux des formes allongées et enfumées, à côté desquelles on les rencontre très souvent. Nous avons même vu, dans de très rares cas, des aspects paraissant correspondre à une division par étranglement des formes allongées.

[1] Ces aspects ont été vus aussi parfois dans la microsporogenèse, mais ils y sont infiniment plus rares.

c) Par ailleurs (fig. III, *18*), on rencontre de ces corps allongés et enfumés, mélangés à d'autres qui paraissent résulter des premiers par un phénomène de raccourcissement et de condensation, et l'on trouve tous les passages entre ces éléments de plus en plus sombres et des sortes de spores très noires ne présentant jamais aucune structure visible.

La signification de ces formes reste douteuse. Voici cependant ce que l'on peut dire de plus positif à leur égard. Tout d'abord, les formes allongées, qu'elles soient enfumées ou qu'une différen-

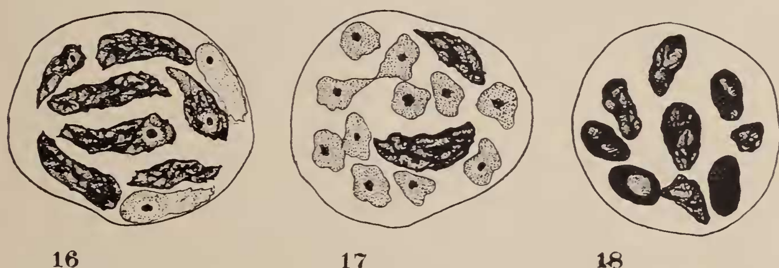


Fig III.

Sporogenèse aberrante de *P. bufonis*.

16 = éléments allongés, souvent impossibles à décolorer par différenciation, paraissant être des sporoblastes; *17* = formes amibiennes paraissant correspondre à des sporoblastes encore non allongés, figures douteuses de division; *18* = stades de transformation des sporoblastes allongés en sortes de spores anormales. (× 2500).

ciation extrêmement poussée ait réussi à décolorer leur protoplasme, se rattachent étroitement aux sporoblastes normaux. Elles ont, comme eux, un protoplasme susceptible, après enlèvement de l'hématoxyline, de se teindre intensément par l'éosine et un noyau compact, à l'intérieur d'une petite vacuole. Sans doute, elles sont dans l'ensemble plus longues, et plus grêles, mais on trouve tous les passages entre des sporoblastes presque normaux et les formes très étirées. Il semble surtout que ces éléments en diffèrent par le fait qu'on n'y voit jamais les transformations qui précèdent habituellement la formation des spores. En particulier, là où devrait se former la vacuole polaire, le protoplasme conserve un aspect simplement spumeux. Un autre fait également très net est que l'on trouve tous les intermédiaires entre ces formes allongées

et des éléments très colorables ayant la forme et la dimension de spores. Cependant, ici, la transformation paraît se ramener à un simple phénomène de condensation du cytoplasme, qui reste longtemps d'aspect grumeleux, sans être accompagnée de la différenciation habituelle. Tous ces faits nous conduisent à voir dans ces aspects une sporogenèse aberrante aboutissant à des spores probablement dépourvues de capsule polaire et vraisemblablement stériles. Quant aux formes amibiennes, d'ailleurs plus rares, leur interprétation est plus difficile. Dérivent-elles des formes précédentes par division ou correspondent-elles, au contraire, à un stade plus jeune de ces mêmes formes ? C'est ce qu'il est impossible de préciser. Nous pencherions toutefois plutôt vers la dernière hypothèse.

Evolution aboutissant a la microspore

(Pl. 1, fig. B).

Par comparaison avec ceux qui renferment les phases d'évolution du parasite aboutissant à la macrospore, les ovocytes qui renferment les stades de la microsporogenèse frappent immédiatement par la plus petite dimension de leurs éléments, la taille moindre des noyaux, le nombre plus élevé et la dimension plus faible des spores. La schizogonie, comme la sporogonie, ont ici une allure bien spéciale.

A. *Schizogonie* (fig. IV).

Les éléments les plus fréquents sont des plasmodes de forme plutôt allongée, à protoplasme dense, renfermant de nombreux noyaux petits et condensés, très fortement colorables (Pl. 1, fig. B, *12*) (fig. IV, *21*, *22*, *23*). Ces noyaux sont souvent très rapprochés les uns des autres et l'on observe, par exemple, de petits plasmodes à 16 noyaux ayant 8 μ de long sur 2 μ,5 de large, alors que les plasmodes arrondis de la macrosporogenèse ont déjà ce diamètre lorsqu'ils n'ont encore que 8 noyaux. Ces petits plasmodes allongés de la microsporogenèse ont une tendance très marquée à se décomposer par plasmotomie (fig. IV, *26*) en éléments renfermant chacun 2, 3 ou 4 noyaux. On rencontre parfois de véritables amas morulaires de petits plasmodes à 2 ou 4 noyaux (fig. IV, *27*), de

forme ovoïde ou irrégulière, qui proviennent aussi de cette dissociation d'un plasmode initial. Ce qui est surtout caractéristique de ce type de schizogonie, c'est que les éléments multinucléés ont une tendance à s'allonger, à prendre une forme mycélienne qui, dans quelques cas, devient tout à fait frappante. La figure IV, *24*, représente une de ces formations, dans laquelle le parasite affecte la forme d'un long filament, renfermant de nombreux noyaux serrés les uns contre les autres, avec parfois les derniers indices

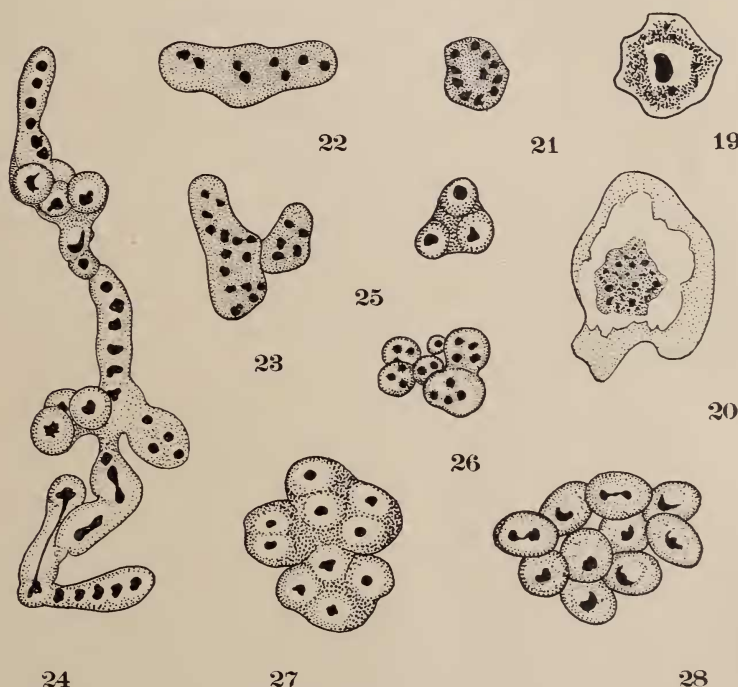


Fig. IV.

Stades de schizogonie de *P. bufonis*, évolution microsporée.

19 = forme douteuse constituant peut-être un schizonte uninucléé; *20* = forme également douteuse à placer probablement au début de la schizogonie; *21* = plasmode à plusieurs noyaux de la schizogonie; *22* et *23* = plasmodes tendant à prendre une forme allongée et renfermant plusieurs noyaux; *24* = forme pseudo-mycélienne, montrant des divisions nucléaires et l'individualisation de petits éléments uninucléés ou plurinucléés, par une sorte de bourgeonnement; *25* = petit plasmode résultant de ce bourgeonnement; *26* = groupe de plasmodes plurinucléés de la schizogonie; *27* = groupe de plasmodes plus gros et à protoplasme plus vacuolisé; *28* = groupe d'éléments résultant de la dissociation simultanée d'un plasmode plurinucléé et pouvant recommencer la schizogonie ou constituer de jeunes sporontes. (× 2500).

d'une division qui vient de s'achever. Ces aspects rappellent ceux qui ont été décrits chez *G. anomala* (Awerinzew et Fermor, 1911). A leurs extrémités et aussi, par endroits, au milieu de leur trajet, ces filaments produisent des schizontes qui tendent à s'isoler en formant parfois de petits amas morulaires, qui paraissent se rattacher à ceux que nous avons décrits précédemment (fig. IV, *27*). D'autres plasmodes, non mycéliens, donnent naissance, par une division simultanée, à un nombre élevé de schizontes, 10 à 20 par exemple, de forme arrondie ou ovoïde (fig. IV, *28*), mesurant 3 μ,4 à 4 μ de long et qui ressemblent, à première vue, aux sporoblastes de la macrosporogenèse, dont ils ont à peu près les dimensions. Néanmoins, ils s'en distinguent facilement par le fait qu'ils sont nus dans le cytoplasme de l'ovocyte et non enfermés dans une coque pansporoblastique. Ces schizontes, à peine individualisés, présentent souvent une division de leur noyau qui est, pensons-nous, le prélude d'une nouvelle schizogonie, à moins que l'on ne veuille y voir l'origine d'éléments binucléés susceptibles de donner, par autogamie, les sporontes initiaux. Toutefois, nous n'avons rien vu qui indiquât l'existence d'une copulation de ces noyaux.

Dans notre description, nous sommes partis de plasmodes plurinucléés, plus ou moins en forme de filaments mycéliens, dont il est difficile de reconstituer avec exactitude l'origine. Cependant, dans les ovocytes à microsporogenèse pure, nous avons rencontré un certain nombre d'aspects qui n'ont pas d'équivalents dans la macrosporogenèse et qui pourraient correspondre aux formes végétatives initiales. Ce sont d'une part des sortes d'amibes à contour irrégulier (fig. IV, *19*), à protoplasme enfumé et renfermant des granulations basophiles, creusé d'une grande vacuole centrale contenant le noyau; d'autre part des formes également amiboïdes (fig. IV, *20*), à protoplasme basophile, présentant plusieurs points colorés par l'hématoxyline ferrique, correspondant soit à des granulations, soit à des noyaux et probablement aux deux. Ce sont sans doute ces petites formes qui en s'accroissant, en s'allongeant et en multipliant leurs noyaux, donnent naissance aux formations pseudo-mycéliennes.

B. *Sporogonie.*

Les sporontes, isolés et uninucléés, qu'ils tirent ou non leur origine d'un phénomène autogamique que nous n'avons pas réussi

à constater, présentent dans leur cytoplasme en voie d'accroissement une série de divisions nucléaires qui se font suivant un mode caryocinétique d'une admirable clarté et que nous n'avons jamais observé, dans aucune Microsporidie, avec une pareille netteté[1]. Le noyau au repos est assez volumineux, avec un caryosome central très colorable (fig. V, *29*) (Pl. 1, fig. B, *15*); il est situé à l'intérieur

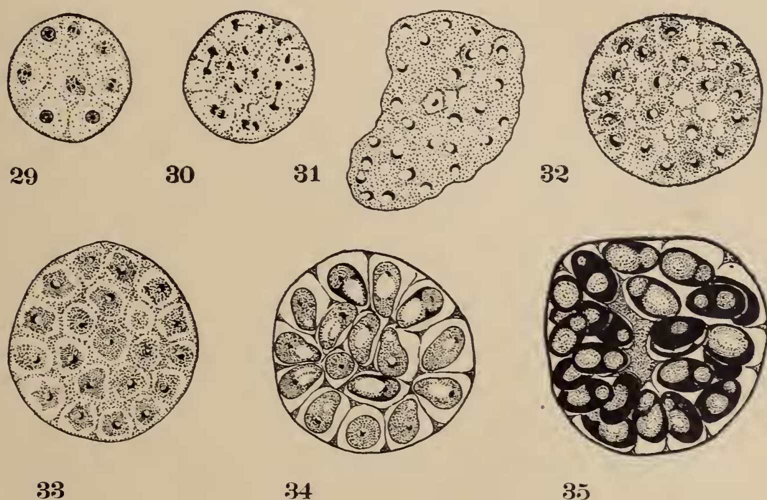


Fig. V.

Stades de la sporogonie de *P. bufonis*, évolution microsporée.

29 = sporonte à plusieurs noyaux dont quelques-uns en caryocinèse; *30* = stades d'anaphase et de télophase de ces divisions; *31* = plasmode renfermant un grand nombre de noyaux et montrant le début de l'individualisation des sporoblastes; *32* = même stade un peu plus avancé; *33* = sporoblastes devenus libres dans les mailles du plasmode pansporoblastique; *34* = transformation des sporoblastes en spores; *35* = pansporoblaste renfermant les microspores avec, au centre, le reliquat du reticulum. (× 2500).

d'une vacuole. Au moment de la division, il apparaît un petit fuseau, quelquefois un peu renflé en ellipsoïde, sans centrosome, à l'équateur duquel se disposent trois grains chromatiques, parfaitement nets et individualisés. Par suite des divisions répétées

[1] A côté des sporontes présentant ces divisions caryocinétiques multiples dans une même masse cytoplasmique, on observe des divisions accompagnées de plasmodiérèse et aboutissant à des amas de petits individus, peut-être susceptibles de recommencer le cycle schizogonique (Pl. 1, fig. B, 11).

du noyau primitif (Pl. 1, fig. B, *15*, *16*, *18*), les sporontes en voie d'accroissement renferment bientôt 4, 8, 16 noyaux et davantage (fig. V, *30*, *31*, *32*). Les figures dans lesquelles on rencontre 17, 19, 24, 30, 32, 36 noyaux sont les plus fréquentes. A ce moment, la structure du sporonte est la suivante: sous sa membrane qui sera la coque du futur pansporoblaste, des travées de cytoplasme délimitent un réseau dont les mailles correspondent chacune à un sporoblaste. Celui-ci montre surtout un noyau pourvu d'un caryosome très chromatique, le protoplasme étant à peine colorable. Plus tard, chaque noyau s'étale et se recourbe en croissant (Pl. 1, fig. B, *17*) (fig. V, *31* à *33*), en coiffant une vacuole plus ou moins nette, tandis que le protoplasme du sporoblaste devient de plus en plus colorable et mieux délimité. Finalement, dans chaque maille se trouve un petit élément (fig. V, *33*) à noyau en croissant, qui prend une forme ovoïde, celle de la future spore, en laquelle il se transforme directement (fig. V, *34*).

Les sporontes, au moment où l'on compte, par exemple, 20 à 32 noyaux à leur intérieur, ont un diamètre de 8 μ environ, correspondant à celui des plasmodes de la macrosporogenèse ne renfermant encore que 8 noyaux. C'est dire que les éléments qui prennent naissance à leur intérieur sont beaucoup plus petits; en effet, les sporoblastes de la microsporogenèse, lorsqu'ils se présentent sous forme de petits corps arrondis ou amiboïdes, à l'intérieur des mailles du sporonte, n'ont guère que 1 μ,6 à 2 μ de diamètre, tandis que les sporoblastes de la macrosporogenèse mesurent 2 μ,5 à 3 μ,5.

C. *Nombre des chromosomes.*

Grâce à une série de préparations exceptionellement bien colorées, nous avons pu examiner plusieurs centaines des cinèses que l'on rencontre dans la sporogonie, presque toutes au stade de métaphase. Nous les avons fait voir à plusieurs personnalités scientifiques qui ont pu constater leur extraordinaire clarté et leur régularité. Nos examens ont porté sur divers ovocytes renfermant de la microsporogenèse et partout nous avons rencontré des divisions absolument comparables. D'autre part, bien que nous les ayons cherchées avec soin, nous n'avons jamais pu retrouver dans la macrosporogenèse de figures comparables et les seuls aspects de division que nous y avons observés sont des figures d'anaphase et de télo-

phase, assez confuses, sans grains bien nettement individualisés, tout à fait analogues à ce que d'autres auteurs ont figuré.

Etant donnée la fréquence de ces cinèses, dont on peut observer jusqu'à huit dans un même plasmode, et eu égard au petit nombre des grains chromatiques, nous avons été tentés d'effectuer quelques numérations. L'un de nous a examiné en détail, dans trois ovocytes différents, 170 de ces cinèses, qui ont montré 169 fois 3 grains et 1 fois 2 grains. L'autre auteur de ce travail a, de son côté, étudié 190 divisions dont 185 présentaient 3 grains très nets et 5 paraissaient, bien qu'avec doute, ne montrer que 2 granules. Toutes les cinèses où la numération était impossible, en raison de l'empâtement de la masse chromatique, ont été naturellement laissées de côté. Il résulte de là que, sur 360 cinèses lisibles, il a été compté — sans erreur possible — 354 fois 3 chromosomes et 6 fois 2 seulement. Nous pensons que cette haute constance tient d'abord à ce que le nombre peu élevé des grains rend leur numération facile, malgré leur faibles dimensions (0 μ,2) et d'autre part, à ce que la figure, étant très petite (0 μ,6 à 0 μ,8), a peu de chances d'être incomplète dans des coupes d'une épaisseur moyenne de 6 μ, et de ne montrer qu'une partie des grains qui la constituent. Nous réservant de revenir plus loin sur les réflexions que suggère ce nombre impair de 3 chromosomes dans la microsporogenèse, nous nous contenterons, ici, d'attirer l'attention sur cette confirmation inattendue de la constance des grains chromatiques dans la figure caryocinétique que le hasard d'une fixation et d'une coloration adéquates nous a permis de vérifier dans un Sporozoaire d'aussi infimes dimensions.

D. *La microspore.*

La transformation du sporoblaste en microspore, bien que plus difficile à suivre, paraît présenter les mêmes étapes que dans le cas de la macrospore. Les spores nombreuses, typiquement au nombre de 32 à 64, mesurent environ 2 μ,8 à 3 μ,2 dans leur plus grand axe. Parfois on observe des spores exceptionnellement petites, ne mesurant guère que 2 μ,4 ou de plus grandes pouvant atteindre 3 μ,5, c'est-à-dire à peu près la taille minimum des macrospores. Les pansporoblastes renferment à leur intérieur un

corps éosinophile qui est le reliquat du réseau dans lequel les spores se sont formées (fig. V, *35*).

Comme nous l'avons précédemment indiqué, les descriptions que nous venons de donner des évolutions aboutissant à la macrospore ou à la microspore, ont été faites uniquement d'après les figures observées dans les ovocytes qui renfermaient exclusivement l'un ou l'autre de ces types de sporogonie. Il est intéressant de noter que les deux évolutions peuvent aussi se rencontrer, côte à côte, dans un même ovocyte.

Evolution dans les cellules migratrices (fig. VI).

Lorsqu'on examine des ovocytes encore non parasités, on rencontre fréquemment, dans leur cytoplasme, des cellules migratrices dont la plupart paraissent être des cellules folliculaires. Celles-ci pénètrent activement dans l'ovocyte, comme cela se voit au cours des phénomènes normaux de dégénérescence que présentent ces éléments. Ce qui est remarquable, c'est que ces cellules peuvent être infectées par la Microsporidie qui se développe dans leur protoplasme ou plus fréquemment à l'intérieur de leur noyau. Elles peuvent ainsi jouer un rôle d'agents de dissémination du parasite, en infestant de nouveaux ovocytes.

A. *Développement dans le cytoplasme.*

Nous avons observé des phases de la schizogonie du type macrosporé aboutissant à la formation de schizontes arrondis qui soulèvent de toutes parts la paroi de la cellule, tandis que le noyau de celle-ci, rejeté sur le côté, est encore bien reconnaissable (fig. VI, *36*). Ces schizontes ne tardent pas à crever la membrane cellulaire et à devenir libres dans le cytoplasme de l'ovocyte où ils peuvent recommencer le cycle schizogonique.

B. *Développement dans le noyau.*

A l'intérieur de certains ovocytes, presque toutes les formes de développement de la Microsporidie sont remarquables, d'abord par la netteté et la colorabilité de la membrane qui limite les plasmodes

ou les pansporoblastes et, d'autre part, par la présence, le long de cette membrane ou au milieu du parasite — et cela à tous les stades —, de grosses masses chromatiques pouvant atteindre le double ou le triple de la dimension des spores (fig. VI, *40* à *44*). Ces masses ne présentent aucune structure; leur nombre, leur taille et leur forme sont essentiellement irrégulières; ces caractères empê-

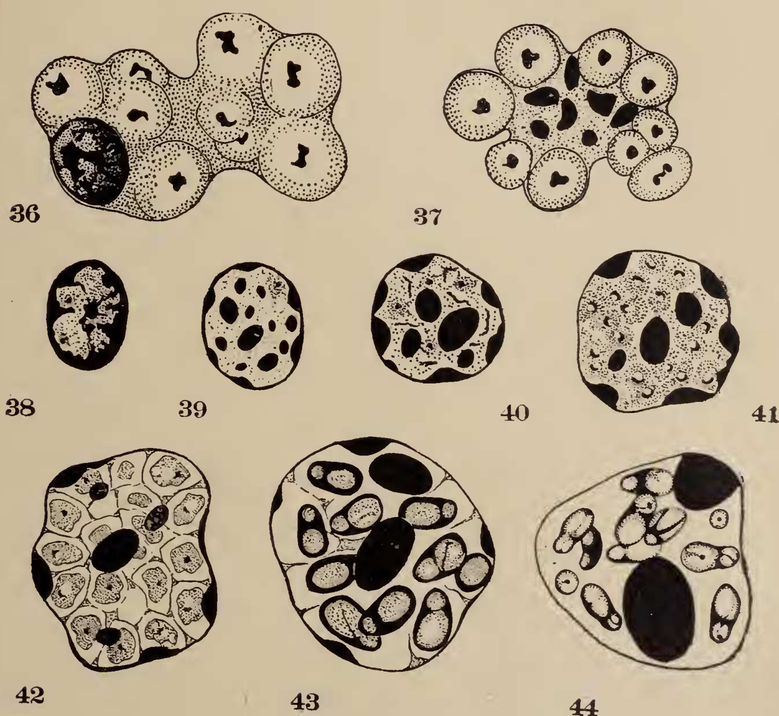


Fig. VI

Stades de développement de *P. bufonis*, à l'intérieur de cellules folliculaires.

36 = fin de la schizogonie, type macrosporé, dans le cytoplasme de la cellule dont on voit le noyau à gauche; *37* = fin de la schizogonie avec destruction du noyau dont on voit, au centre, les reliquats chromatiques; *38* = noyau de cellule folliculaire, encore peu altéré et renfermant le parasite; *39* = altération du noyau parasité, dont la chromatine est réduite en boules de différentes dimensions; *40* = plasmode plurinucléé à l'intérieur du noyau gonflé et désagrégé; *41* = individualisation des sporoblastes dans le noyau dont la chromatine se présente sous forme de gros reliquats chromatiques; *42* = sporoblastes libres dans les mailles du plasmode intranucléaire; *43* = formation des spores dans le pansporoblaste intranucléaire; *44* = stade plus avancé, les débris chromatiques se sont agglomérés en masses volumineuses. × 2500).

chent de les confondre avec des spores et, d'ailleurs, on les observe à tous les stades de la schizogonie et de la sporogonie.

L'examen d'un nombre considérable de figures et de quelques stades initiaux nous a permis de reconstituer l'origine de ces masses. Elles ne sont autre chose que des reliquats de la chromatine des noyaux, *à l'intérieur* desquels la microsporidie a évolué. Ces noyaux paraissent appartenir soit à des leucocytes, soit plus habituellement à des cellules folliculaires ayant pénétré dans les ovocytes. On constate, en effet, que le protoplasme de ces cellules, encore bien reconnaissable au début, ne tarde pas à se confondre avec celui de l'ovocyte, si bien que les noyaux sont ou paraissent nus dans le protoplasme des éléments de l'organe de Bidder. Ces noyaux ont encore la structure normale (fig. VI, *38*), une chromatine disposée en un réseau et sous forme de masses irrégulières. Puis ces noyaux commencent par présenter un phénomène de gonflement; à ce stade, il peut arriver que l'on observe (fig. VI, *38*), à l'intérieur du noyau, là où l'hématoxyline a subi une forte différenciation, un point noir très coloré, entouré d'une zone vacuolaire. Ces aspects paraissent correspondre à un jeune parasite, à l'intérieur du noyau. Celui-ci subit bientôt une dégénérescence caractéristique. La chromatine se résoud en une série de masses arrondies ou ovoïdes, sans structure, qui, à ce moment, masquent complètement le parasite. Un nouveau gonflement du noyau amène l'écartement des boules chromatiques et le parasite devient nettement visible. La figure VI, *40*, représente un plasmode plurinucléé (probablement un stade 4), à l'intérieur d'un noyau. Le noyau continuant à se gonfler, une partie des masses chromatiques restent collées à la membrane nucléaire, bien visible, très colorable; le reste des reliquats chromatiques forme des boules qui ont une tendance à s'agglomérer en masses de plus en plus volumineuses. A partir de ce stade, les figures sont très faciles à interpréter. La schizogonie aboutit à la production de schizontes qui font autant de saillies soulevant la membrane nucléaire, tandis que les boules chromatiques restent rassemblées au centre (fig. VI, *37*). Finalement, la membrane nucléaire crève et les schizontes deviennent libres dans le cytoplasme de l'ovocyte. Dans d'autres cas, il s'agit d'une sporogonie, avec formation et individualisation des sporontes (fig. VI, *41*, *42*), leur transformation en sporoblastes, puis en spores (fig. VI, *43*, *44*), toujours à l'intérieur de la membrane nucléaire, qui double alors

la coque pansporoblastique proprement dite. Dans les pansporoblastes, qui peuvent appartenir au type macrosporé ou microsporé, suivant les cas, on voit des spores, quelques boules chromatiques et souvent une masse rose éosinophile qui représente le reliquat du réticulum dans les mailles duquel s'étaient individualisés les sporoblastes.

C. *Comparaison avec les faits signalés par Stempell.*

Il est difficile de savoir si les cellules migratrices ont été infectées après leur pénétration dans l'ovocyte ou si, au contraire, ce sont elles qui ont contaminé les ovocytes dans lesquels elles ont pénétré. Nous pencherions plutôt vers la deuxième hypothèse. Il est intéressant, pensons-nous, de constater le développement d'une Microsporidie à l'intérieur d'un noyau, dans lequel le germe initial du Sporozoaire est complètement invisible.

Cette évolution suggère une interprétation possible des faits singuliers constatés par Stempell (1904) chez *Glugea anomala* et revus par Awerinzew et Fermor (1911). Pour ces auteurs, le kyste dans lequel se développent les nombreux stades de schizogonie et de sporogonie aurait une paroi propre qui serait la couche la plus superficielle du parasite lui-même. Au-dessous de cette couche limitante, se trouvent de gros noyaux qui, autant que l'on puisse juger par les figures publiées, ont tout à fait la taille, la forme et la structure de noyaux de Métazoaires et n'ont aucun rapport avec les noyaux du parasite. Cependant, tandis que certains de ces noyaux, considérés comme des noyaux végétatifs de la *Glugea* par Stempell, dégénèrent par suite, dit l'auteur, d'une rupture d'équilibre entre la substance nucléaire et le cytoplasme du parasite, les autres seraient le siège de phénomènes extraordinaires de bourgeonnement ou de division multiple. C'est de cette multiplication que résulteraient les futurs sporontes qui tireraient du noyau végétatif leurs noyaux et même leur cytoplasme. Bien que des faits de ce genre aient été revus par Awerinzew et Fermor, l'interprétation qui en a été fournie s'est heurtée à une incrédulité générale. Doflein (1916), Weissenberg (1911), Mrazek (1910), ont considéré ces gros noyaux comme des noyaux de l'hôte. L'un de nous (1922) dans son étude sur *Glugea danilewskyi*, a donné de nouveaux arguments en faveur de cette dernière interprétation.

Mais, s'il est admis que les noyaux décrits par Stempell sont bien des noyaux des cellules de l'hôte qui ont pénétré dans la masse du kyste, comment concevoir que ces noyaux aient pu paraître être le siège de phénomènes de multiplication et de prolifération ayant abouti à la production de sporontes ? Nous basant sur ce que nous avons observé du développement intranucléaire de la *Plistophora* de l'organe de Bidder, nous nous demandons si Stempell n'aurait pas été en présence de phénomènes analogues et si la seule erreur qu'il ait commise ne serait pas d'avoir méconnu la nature des gros noyaux en les prenant pour des noyaux végétatifs du parasite lui-même, alors qu'il s'agissait peut-être de noyaux de l'hôte parasités et à l'intérieur desquels le Sporozoaire présentait les stades préliminaires de son évolution.

D. *Infiltration diffuse dans le tissu conjonctif.*

Nous ne dirons que quelques mots de cette évolution qui ne présente rien de bien caractéristique. Ainsi que nous l'avons fait remarquer, lorsqu'un ovocyte a été détruit par l'action conjuguée du parasite et des phagocytes, il persiste à sa place une sorte de cicatrice, dans laquelle on observe de très nombreuses cellules folliculaires, des leucocytes, des débris du cytoplasme de l'ovocyte avec, parfois encore, à l'intérieur de ces plages cytoplasmiques, des parasites à divers stades d'évolution. On y rencontre aussi des pansporoblastes libres, renfermant des sporoblastes en transformation ou plus fréquemment des spores achevées. Parfois la sporogonie paraît se faire à l'intérieur de cellules folliculaires. Ces zones cicatricielles sont peu à peu remaniées, les pansporoblastes se trouvent rompus pour la plupart et les spores disséminées, dans le tissu conjonctif qui occupe le centre de l'organe de Bidder (Pl. 1, fig. D). Peut-être est-ce de cette zone que partent les cellules migratrices infectées qui vont ensuite disséminer le parasite en pénétrant dans de nouveaux ovocytes ?

Signification des deux types d'évolution.

Le principal intérêt du travail que nous présentons aujourd'hui nous paraît résider dans le fait que, grâce à leur distribution dans des ovocytes différents, nous avons pu mettre hors de doute l'exis-

tence de deux types d'évolution de la Microsporidie, caractérisés non seulement par la dimension des spores, mais aussi par l'allure dissemblable des deux sortes de schizogonie et de sporogonie [1]. Certes, ce n'est pas la première fois que l'on signale, dans ce groupe de Sporozoaires, l'existence de deux sortes de spores plus ou moins nettement séparables. HESSE (1903) distingua, dans *Thelohania janus*, deux sortes de pansporoblastes, les uns à 4 spores de grande taille, réniformes, mesurant 6 μ de long sur 2 μ de large, les autres à 8 spores, plus petites, ovoïdes, n'ayant que 3 μ de long sur 2 μ de large. Le même auteur (1904), dans *T. legeri*, reconnut l'existence de macrospores de 12 μ et de microspores de 6 à 8 μ. SCHRÖDER (1909) signale aussi, dans *T. chaetogastris*, des macrospores de 6 μ sur 4 μ et des microspores plus nombreuses de 4 μ sur 3 μ. Des faits de même ordre ont été décrits par STRICKLAND (1913) chez *T. fibrata* et par DUNKERLEY (1912) chez *T. ovata*. KUDO (1922-1924) a retrouvé, chez *T. opacita*, l'existence de sporontes tétrasporés et octosporés donnant réciproquement de grandes et de petites spores. Déjà LÉGER (1897) avait noté, chez *T. varians*, des macrospores mesurant 8 μ de long et des microspores n'ayant que 4 à 5 μ. Un semblable dimorphisme des spores a été constaté dans *Gurleya legeri* par HESSE (1903) et par MACKINNON (1911) et, dans *G. richardi*, par CÉPÈDE (1911). Cette distinction entre macrospores et microspores a été retrouvée par GUYÉNOT et NAVILLE (1922) dans *Plistophora (Glugea) danilewskyi*, où les spores mesurent réciproquement 4 et 3 μ de long. DEBAISIEUX a aussi constaté une différence de taille entre les spores de cette espèce, mais sans y attacher d'importance fondamentale, considérant qu'il n'y a pas de limite tranchée entre les deux sortes de spores. Le même auteur a observé une différence de même ordre et de même signification dans les spores de *G. mulleri*. Cette distinction entre macrospores et microspores se retrouve fréquemment chez les *Plistophora*. D'après SCHUBERG (1910), les macros-

[1] Des observateurs qui auraient vu séparément les deux types d'évolution en auraient fait, à coup sûr, des espèces différentes. Il est toutefois impossible de s'arrêter à une hypothèse de ce genre, considérant les deux évolutions comme appartenant à deux parasites; il serait plus qu'invraisemblable qu'aussi bien chez la Couleuvre que chez le Crapaud, deux Microsporidies puissent se développer parallèlement, toujours ensemble, dans les mêmes organes et les mêmes cellules.

pores de *P. longifilis* mesurent 12 μ sur 6 μ, tandis que les microspores n'ont que 3 μ sur 2 μ. Les kystes de *P. mirandellae* sont, d'après VANEY et CONTE (1901), de deux sortes. Les plus petits renferment des microspores de 7 μ,5 sur 4 μ et les plus grands des macrospores ayant 12 μ sur 6 μ. AUERBACH (1910) a noté chez *P. elegans* des macrospores de 10 μ sur 4 μ et des microspores dont les dimensions ne sont pas indiquées. Chez *P. simuli*, LUTZ et SPLENDORE (1904) distinguent des grandes spores (forme α) ayant 5 μ,5 à 8 μ,5 et des spores plus petites (forme β) mesurant 4 μ,5 à 5 μ,5. En présence de ces faits, la question s'est naturellement posée de savoir s'il fallait attacher une importance considérable à ces différences de taille des spores ou si l'on n'avait affaire qu'à des variations secondaires, tenant à la nature des conditions de développement. C'est un fait bien connu de tous ceux qui ont travaillé sur ces organismes que la taille des spores présente une certaine échelle de variabilité. Chez *Nosema marionis*, on a observé des spores variant comme longueur de 1,5 à 7 μ; cette variation est de 2,5 à 5 μ, chez *Nosema pulicis*, de 2 à 6 μ chez *Stempellia mutabilis* et de 12 μ,5 à 16 μ,5 chez *S. magna*. Aussi plusieurs auteurs, et notamment KUDO (1924), dans sa très belle monographie des Microsporidies, sont-ils portés à ne voir dans ces différences que le résultat de variations dans la rapidité de développement et l'intensité des divisions précédant la sporogenèse, dues sans doute à des conditions dissemblables de multiplication du parasite. Les écarts maximum n'auraient guère que la valeur d'anomalies. Ce serait le cas, d'après KUDO, au moins chez les *Thelohania*.

Par contre, d'autres auteurs ont cru reconnaître entre les deux sortes de spores des différences de structure, ou ont cru pouvoir leur attribuer des significations différentes au point de vue du cycle évolutif. Ainsi, d'après HESSE (1903), les microspores de *T. janus* et de *Gurleya legeri* pourraient dévaginer un filament, tandis que les macrospores de ces espèces ne réagiraient pas de la même façon aux réactifs. Par contre, KUDO a constaté la présence des filaments dans les deux sortes de spores de *T. opacita*. Dans leur étude de *Plistophora (Glugea) danilewskyi*, GUYÉNOT et NAVILLE ont maintes fois constaté que les frottis de spores provenant de kystes différents se comportaient d'une façon dissemblable, vis-à-vis des réactifs permettant l'expulsion du filament polaire. Tandis que, dans certains cas, presque toutes les spores

traitées par l'acide chlorhydrique dilué émettaient des filaments, dans d'autres cas ce traitement n'était suivi d'aucun effet. Ces auteurs n'avaient pas alors attribué grande importance à cette dissemblance de comportement, la mettant sur le compte de différences dans la maturité des spores. Il est possible que les deux sortes de spores ne réagissent pas de la même façon aux réactifs, sans que, pour autant, leur structure soit fondamentalement différente.

Une autre conception a été émise par Vaney et Conte (1901), à propos des deux formes de spores de *P. mirandellae*. Les macrospores serviraient à l'autoinfection, tandis que les microspores constitueraient les véritables formes de dissémination du parasite d'un hôte à l'autre. Toutefois, cette vue paraît n'avoir reçu, depuis, aucune confirmation.

Il est bien évident que l'appréciation de la valeur des deux sortes de spores se heurte à d'énormes difficultés, tant que l'on ne considère que la seule dimension des spores. Un progrès important dans l'étude de cette question a été réalisé lorsque Guyénot et Naville (1922) ont montré que les deux sortes de spores de *Plistophora (Glugea) danilewskyi*, bien que peu différentes l'une de l'autre au point de vue de la taille (dimensions moyennes 4 μ et 3 μ), étaient l'aboutissement de deux types distincts de sporulation. Ceux-ci ne sauraient être considérés, comme c'est probablement le cas pour d'autres espèces, comme se ramenant à une différence dans le nombre des divisions du sporonte; dans la macrosporogenèse, les sporontes sont plus volumineux, à protoplasme plus colorable et à noyaux plus gros, tandis que la microsporogenèse se fait dans des sporontes à protoplasme presqu'incolorable, à noyaux petits et plus nombreux. Aussi les auteurs ont-ils surtout distingué une évolution *macronucléée* et une évolution *micronucléée*. Cette distinction qui ne s'était imposée à leur esprit que peu à peu, et par l'examen prolongé d'un matériel exceptionnellement abondant, pouvait être encore considérée comme douteuse du fait que presque toujours les deux types de sporogonie se trouvaient réunis dans les mêmes formations kystiques. L'étude que nous venons de faire de *Plistophora bufonis* met cette différence hors de doute, puisque les deux types d'évolution ont pu être suivis dans des ovocytes différents et que les dissemblances portent, non seulement sur la sporogonie, mais aussi sur la schizogonie.

Si l'existence de ces deux types de développement est ainsi rendue certaine, au moins dans les deux espèces que nous avons étudiées, leur signification relative reste beaucoup plus douteuse. Guyénot et Naville avaient suggéré, à titre de simple hypothèse, que le cycle micronucléé pourrait correspondre à un développement parthénogénétique et le cycle macronucléé à l'évolution sexuée normale. Ce qui donnait un certain poids à cette hypothèse, c'était l'existence, observée dans de rares cas, de formes en virgules, faisant penser à des gamètes. Mais, outre que la fécondation n'avait pas été observée, nous n'avons depuis rien retrouvé qui correspondît à ces aspects énigmatiques. La présence, dans le cycle microsporé de *P. bufonis*, de cinèses montrant un nombre impair, c'est-à-dire un nombre vraisemblablement haploïde de chromosomes, nous était d'abord apparue comme pouvant donner un appui solide à cette hypothèse. Mais, il est évident que cette constatation n'aurait eu toute sa valeur que si nous avions pu compter les granules chromatiques dans les formes, à plus gros noyau, aboutissant aux macrospores. Malheureusement, les cinèses de cette partie du cycle étaient beaucoup plus rares; elles ne montraient que des figures d'anaphase ou de télophase où toute numération était impossible, en raison de l'empâtement des éléments chromatiques. Aucune preuve décisive n'a donc pu être tirée de cette étude.

Nous tenons, à ce sujet, à insister sur la différence que présentent les deux cycles, non seulement au point de vue des aspects nucléaires, mais aussi en ce qui concerne la fréquence des divisions. Cette dissemblance ne peut être vraisemblablement attribuée à des conditions de milieu, puisque fréquemment les deux évolutions se rencontrent, côte à côte, avec tous leurs caractères distinctifs, dans un même ovocyte. Cette constatation montre aussi qu'il serait vain d'attribuer à des circonstances externes la différence existant entre les deux types de schizogonie et de sporogonie.

Bien que nous soyons fortement portés à voir un rapport entre les deux cycles d'évolution et le développement sexué du parasite, nous estimons qu'il règne encore trop d'incertitude sur le mode et le moment exact de la fécondation, pour qu'il soit prudent d'ajouter à celles qui existent une hypothèse nouvelle. Tantôt, en effet, on a placé la fécondation dans le germe sortant de la spore, comme chez les Myxosporidies, tantôt on a décrit une hétérogamie ou une

autogamie précédant la formation des sporoblastes. Quand il y a tant d'opinions, il est difficile, en l'absence de confirmations nombreuses, de dire quelle peut être la bonne.

Nous voulons encore faire une remarque relative à l'état haploïde des sporontes de la microsporogenèse. Cette condition, qui paraît, à première vue, être un argument en faveur d'un développement parthénogénétique de ces éléments, perd beaucoup de sa valeur si l'on tient compte des découvertes qui ont été faites, à ce point de vue, chez d'autres Sporozoaires. Chez les *Aggregata*, en effet, les recherches de Dobell (1915), confirmées et étendues par Naville (1925), celles de Jameson (1915) sur la Grégarine *Diplocystis schneideri*, ont montré que presque tout le développement du parasite se fait à l'état haploïde; la phase diploïde se trouve réduite à la courte période qui sépare la fécondation de la première division du zygote. On peut dès lors se demander si la schizogonie et la sporogonie des Microsporidies ne se passent pas toutes entières pendant la phase haploïde. Si notre étude aboutit à poser plus de questions qu'elle ne permet d'en résoudre, elle montre du moins que la connaissance du cycle évolutif des Microsporidies est peut-être moins complète que ne le pensent certains auteurs.

Systématique.

Comparaison avec *Bertramia bufonis* King.

Le parasite que nous avons étudié paraît rentrer, d'après son mode de sporulation, dans le genre *Plistophora*. Bien que, surtout dans la macrosporogenèse, les pansporoblastes renferment le plus souvent 4, 8 ou 16 spores, ce nombre ne paraît pas absolument constant; dans la microsporogenèse, le nombre des spores, compris en général entre 32 et 64, paraît plus variable encore, ce qui tient peut-être à la difficulté plus grande des numérations.

La Microsporidie qui parasite l'organe de Bidder présente d'autre part d'indéniables affinités avec celle que l'un de nous a précédemment étudiée (1922) dans la Couleuvre et que Debaisieux a décrit sous le nom de *Glugea danilewskyi*. Si nous ne connaissions ce parasite que par les descriptions de cet auteur, nous n'hésiterions pas à le séparer nettement de *Plistophora bufonis*, en raison de l'autoga-

mie que DEBAISIEUX a constatée dans les sporontes, avant leur division en deux sporoblastes. Par contre, dans l'étude que l'un de nous a faite de cette Microsporidie, ce type de sporulation n'a pu être retrouvé et les phases observées étaient, à tous points de vue, comparables à celles présentées par le nouveau parasite. Les deux formes ne diffèrent guère que par la dimension des spores et encore cette dissemblance est-elle peu significative. Les spores de la Microsporidie de la Couleuvre mesurent de 3 à 4 μ tandis que celles du parasite du Crapaud ont de 4 à 5 μ,5 pour les macrospores et de 2,8 à 3 μ,2 pour les microspores. Ce qui contribue à rendre incertaine la détermination des deux espèces, c'est que *Glugea danilewskyi* a été signalée non seulement dans divers Reptiles, mais aussi chez *Rana temporaria* (PFEIFFER, 1895). Bien que nous ayons quelque arrière pensée au sujet de la séparation des deux espèces, toutefois, pour ne pas tomber dans l'excès inverse et pour ne pas paraître confirmer par une synonymie prématurée une assimilation encore incertaine, nous décrivons le parasite de l'organe de Bidder du Crapaud sous le nom de *Plistophora bufonis*.

Reste la question de savoir quels sont les rapports entre ce parasite et *Bertramia bufonis*, décrite par H. D. KING (1907) dans les ovocytes de l'organe de Bidder de *Bufo lentiginosus*. N'ayant pas vu les coupes étudiées par KING et les figures publiées par cet auteur étant assez sommaires, il nous est difficile de nous faire une opinion précise. Nous dirons seulement que les phases de schizogonie et de sporogonie sont tout à fait comparables à ce que nous avons nous-mêmes observé. Les raisons pour lesquelles KING a cru devoir classer le parasite parmi les Haplosporidies ne ressortent d'ailleurs pas clairement de son étude, et cette assimilation a donné lieu à des critiques que nous croyons justifiées. La seule différence importante entre les deux Sporozoaires, qui se développent tous deux dans les organes de Bidder d'espèces voisines, réside dans la taille et la structure des spores. A l'intérieur de pansporoblastes, KING a vu se former une trentaine d'éléments allongés, pouvant atteindre 8 μ de long qu'elle considère comme des spores. Dans un cas, ces spores ont une seule vacuole renfermant un, puis deux noyaux, dans l'autre, deux vacuoles renfermant chacune un noyau. Ces noyaux paraissent disparaître, puis l'élément se colore d'une façon intense et uniforme, sans qu'aucune structure ait pu être précisée à son intérieur. Il est certain que si c'étaient là de véritables spores,

le parasite serait très différent de celui que nous venons d'étudier. Par contre, les figures données par King offrent de frappantes analogies avec l'aspect que présentent les sporoblastes et spécialement ces formes enfumées, très longues, avec un ou parfois deux noyaux dans une vacuole, que nous avons considérées comme des sporoblastes présentant une évolution aberrante. Il est donc fort possible que King n'ait pas observé dans ses préparations la véritable formation des spores normales (d'autant que dans un ovocyte à cytoplasme paraissant altéré nous n'avons rencontré, en fait de spores, que ces éléments anormaux) et que *Bertramia bufonis* doive être un jour considérée comme synonyme de *Plistophora bufonis*.

Résumé et conclusions.

I. *Plistophora bufonis* n. sp. se développe à l'intérieur des ovocytes de l'organe de Bidder de *Bufo vulgaris*, dont elle entraîne la destruction progressive. Le parasite présente deux types d'évolution, superposables à ceux décrits par Guyénot et Naville (1922) chez *Plistophora (Glugea) danilewskyi*. Ces deux formes de développement peuvent être observées séparément dans des ovocytes différents ou se trouver réunies dans un même élément.

II. L'évolution aboutissant à la production de macrospores comprend une schizogonie à éléments gros, à protoplasme vacuolaire et à noyaux volumineux, et une sporogonie dans laquelle les sporontes forment, par division multiple, des plasmodes plurinucléés se décomposant en un nombre assez défini (4, 8, 16 environ) de sporoblastes donnant chacun une grosse spore (4 μ à 5 μ,5).

III. L'évolution aboutissant à la production de microspores présente une schizogonie dans laquelle les formes végétatives sont petites, à nombreux noyaux et parfois en forme de filaments mycéliens. Les sporontes forment des plasmodes dans lesquels leurs noyaux se multiplient par une série de caryocinèses typiques, montrant, avec une constance presque absolue, trois grains chromatiques. A l'intérieur de ces plasmodes s'individualisent un nombre élevé de petits sporoblastes (32 à 64 environ) donnant autant de microspores (2 μ,8 à 3 μ,2).

IV. Les rapports entre ces deux formes de développement, dont l'existence est mise hors de doute, sont discutés en tenant compte de l'état haploïde des individus de la microsporogenèse. Toutefois, aucune conclusion précise n'a pu être formulée touchant leur véritable signification.

V. Le parasite peut aussi se développer à l'intérieur de cellules folliculaires qui pénètrent dans les ovocytes; la schizogonie et surtout la sporogonie se passent soit dans le cytoplasme de ces cellules, soit, ce qui est plus remarquable, à l'intérieur de leurs noyaux. Ces cellules parasitées, que l'on retrouve dans le stroma conjonctif, jouent probablement un rôle dans la dissémination du parasite à l'intérieur de l'organe.

VI. Les affinités de *Plistophora bufonis* et de *Plistophora (Glugea) danilewskyi* qui parasite non seulement des Reptiles, mais aussi des Batraciens, sont discutées. Il est probable que *Bertramia bufonis*, parasite de l'organe de Bidder d'une autre espèce de Crapaud et que King a classé parmi les Haplosporidies, est identique à *P. bufonis*.

AUTEURS CITÉS

1910. Auerbach (M.). *Zwei neue Cnidosporidien aus Cyprinoiden Fische.* Zool. Anz., Bd. 35, p. 440-441.

1911. Awerinzew (S.) et Fermor (K.). *Studien über parasitischen Protozoen. Zur Frage über die Sporenbildung bei Glugea anomala.* Arch. f. Protist., Bd. 23, p. 1-6.

1911. Cépède (C.). *Sur la présence de Diaptomus castor Jurine dans les mares des dunes de Wimereux-Ambleteuse et description de Gurleya richardi n. sp., Microsporidie nouvelle parasite de ce Copépode d'eau douce.* Ann. Biol. lacust., Tome 5, p. 27-32.

1919. Debaisieux (P.). *Etudes sur les Microsporidies. II. Glugea danilewskyi L. Pfr. III. Glugea mulleri L. Pfr.* La Cellule, Tome 30, p. 153-183.

1920. — *Etudes sur les Microsporidies. IV. Glugea anomala Monz.* La Cellule, Tome 30, p. 217-243.

1915. Dobell (C.) et Jameson (A. P.). *The chromosome cycle in Coccidia and Gregarinas.* Proc. R. Soc., Vol. 89, p. 83.

1912. Dunkerley (J. S.). *On the occurence of Thelohania and Prowazekia in anthomyid flies.* Centralb. Bak., Bd. 62, p. 136-137.

1922. Guyénot (E.) et Naville (A.). *Recherches sur le parasitisme et l'évolution d'une Microsporidie, Glugea danilewskyi* (?). Rev. suisse Zool., Tome 30, p. 1-61.

1925. Guyénot (E.), Naville (A.) et Ponse (K.). *Deux Microsporidies parasites de Trématodes.* Rev. suisse Zool., Tome 31, p. 399-421.

1926. Guyénot (E.) et Ponse (K.). *Constance numérique des chromosomes chez une Microsporidie, Plistophora bufonis n. sp.* C. R. Soc. Biol., Tome 94, p. 3.

1903. Hesse (E.). *Sur une Microsporidie tetrasporée du genre Gurleya.* C. R. Soc. Biol., Tome 55, p. 495-496.

1903. — *Sur la présence de Microsporidies du genre Thelohania chez les Insectes.* C. R. Acad. Sc., Tome 137, p. 418-419.

1907. King (H. D.). *Bertramia bufonis, a new Sporozoan parasite of Bufo lengitinosus.* Proc. Acad. nat. Sc. Philadelphia, Vol. 59, p. 273.

1922. Kudo (R.). *Studies on Microsporidia parasitic in mosquitoes.* Trans. amer. micr. Soc., Tome 40, p. 70-77.

1924. — *A biologic and taxinomic study of the Microsporidia.* Illinois Biol. Monog., Vol. 9, p. 1-268.

1897. LEGER (L.). *Sur une nouvelle Myxosporidie de la famille des Glugeidées.* C. R. Acad. Sc., Tome 125, p. 260-262.

1904. LUTZ (A.) et SPLENDORE (A.). *Ueber Pebrine und verwandte Mikrosporidien. Nachtrag zur ersten Mitteilung.* Centralb. Bak., Bd. 36, p. 645-650.

1911. MACKINNON (D. L.). *On some more protozoan parasites from Trichoptera.* Parasit., Vol. 4, p. 28-38.

1925. NAVILLE (A.). *Recherches sur le cycle sporogonique des Aggregata.* Rev. suisse Zool., Vol. 32, p. 125-179.

1909. SCHRÖDER (O.). *Thelohania chaetogastris, eine neue in Chaetogaster diaphanus Gruith schmarotzende Microsporidienart.* Arch. Prot., Bd. 14, p. 119-133.

1910. SCHUBERG (A.). *Ueber Mikrosporidien aus dem Hoden der Barbe und durch sie verursachte Hypertrophie der Kerne.* Arb. kais. Gesundh., Bd. 33, p. 401-434.

1904. STEMPELL (W.). *Ueber Nosema anomalum Moniez.* Zool. Jahrb. Anat., Bd. 16, p. 235-272.

1913. STRICKLAND (E. H.). *Further observations on the parasites of Simulium larvae.* Jour. Morph., Vol. 24, p. 43-102.

1901. VANEY (C.) et CONTE (A.). *Sur une nouvelle Microsporidie, Pleistophora mirandellae, parasite de l'ovaire d'Alburnus mirandella.* Blanch. C. R. Acad. Sc., Tome 133, p. 644-646.
